Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut
der Universität Erlangen – Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. Maximilian Knorr

Über das Vorkommen von Salmonellen im Bodensee

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
an der
Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen–Nürnberg

vorgelegt von

Otmar Oppelt

aus Breitengüßbach

1963

1965 № 52

Lebenslauf

Ich, Otmar Leonhard Oppelt, wurde am 25. Febr. 1937 in Bamberg als erstes Kind der Eheleute Ludwig und Josephine Oppelt, geb. Fehn geboren. Mein Vater ist Oberlehrer an der Volksschule in Breitengüßbach. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich in das Alte Gymnasium in Bamberg über, wo ich 1957 das Reifezeugnis erwarb. Anschließend immatrikulierte ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen zum Medizinstudium. Nach dem Sommersemester 1958 legte ich dort mit Erfolg das Vorphysikum und nach dem Wintersemester 1959/60 das Physikum ab. Im Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Universität in Innsbruck und ab Sommersemester 1961 bis einschließlich Wintersemester 1962/63 wieder in Erlangen.

Vom April bis Juli 1963 legte ich an der Universität Erlangen das Medizinische Staatsexamen mit Erfolg ab.

Breitengüßbach, den 18. Juli 1963

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Dekan: Professor Dr. A. Windorfer

Referent: Professor Dr. M. Knorr

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1963

A. Über das Vorkommen von Salmonellen in den Zuflüssen des Überlinger Sees

An sechs Stellen von Bacheinmündungen wurden gleichmäßig über das ganze Jahr verteilt, an neun weiteren, ufernahen Stellen stichprobenartig Wasser- und Schlammproben entnommen und auf Keime der TPE-Gruppe untersucht. Regelmäßig untersucht wurden die *Stockacher Aach*, der *Mühlbach* bei *Ludwigshafen*, ein kleiner Bach im Ortsbereich von *Sipplingen*, der *Hödinger Tobel*, der *Goldbach* und der *Nellenbach* in *Überlingen*. Die Stichproben stammten vom *Sulzbach*, vom *Bohnenbach* aus der Nähe der Entwässerungen ins Sublitoral am Campingplatz, vom Westbad, vom Mantelhafen und vom Jachthafen in *Überlingen*, von *Wallhausen* beim Einlauf der Kläranlage, von einem Waldbach bei *Kargegg* und von einem Bach bei der *Marienschlucht am Bodanrück*.

I. Methodik

Die Untersuchungsstoffe wurden in abgestuften Mengen in *Preußscher* Brühe angereichert. Nach 18stündiger Bebrütung bei 37° C wurde auf *Phenolrot-*, *Wilson-Blair-* und

Leifson-Agar ausgesät. Außer der üblichen 18stündigen Bebrütung wurden bei den Untersuchungen im September und Oktober 1961 und im Januar 1962 auch sofort nach Einbringen der Proben sowie nach 8 Stunden ausgesät. Dadurch sollte erkannt werden, ob durch früheres Aussäen der Anreicherung die Zahl der Salmonellenisolierungen erhöht werden kann. Entsprechende Hinweise stammen von *Petzelt* und *Steininger* (1961). Das Ergebnis fiel zugunsten der 18stündigen Bebrütungszeit aus. Bei sofortiger Überimpfung wurden in keinem Fall Salmonellen erfaßt, nach 8 Stunden nur in drei Fällen; sie waren aber auch nach 18 Stunden noch nachweisbar. Bei den Untersuchungen im Jahre 1964 wurde die Selenitanreicherung neben *Preuß* durchgeführt. Die Ergebnisse verbesserten sich dadurch nicht.

Verdächtige Kolonien von *Phenolrotgar* wurden sofort mit omnivalentem Serum geprüft, solche von *Wilson-Blair-* und *Leifson-Agar* erst nach Schrägagarpassage.

Besonders zu erwähnen ist, daß *alle* — nach Prüfung im omnivalenten Serum — verdächtigen Kolonien von einer Aussaat nach davon gewonnenen Reinkulturen weiter untersucht wurden. Bei positiver serologischer Analyse kamen sie auf die große bunte Reihe, auch dann, wenn serologische Identität vorhanden war. Die Erfassung mehrerer Arten aus einer Anreicherung wurde also ebenso wie die der biochemischen Typen einer Art gesichert.

Die angereicherten *Wassermengen* standen im folgenden Verhältnis zu der *Preuß*schen Anreicherungsflüssigkeit: 0,1 ml : 5 ml; 1,0 ml : 50 ml; 10,0 ml : 100 ml; größere Mengen wurden filtriert und die Membranfilter in 200 ml ausgesät.

II. Bericht über die positiven Ergebnisse

1. Stockacher Aach

Es handelt sich bei der *Stockacher* Aach um einen vor der Mündung 6—7 m breiten, ca. 1 m tiefen Fluß mit relativ großem Einzugsgebiet. Er dient auch größeren Ortschaften mit Industrie, u. a. *Espasingen, Wahlwies, Orsingen, Eigeltingen, Stockach* und *Winterspüren* als Vorfluter. Er stellt den größten Zubringer des *Überlinger Sees* dar. An der Entnahmestelle, ungefähr 200 m oberhalb der Mündung, bestand bis auf den Winter und das Frühjahr ein Wasserrückstau vom See her, d. h. die Fließgeschwindigkeit war meist gering. Das entnommene Wasser war bei allen Proben trüb und hatte bisweilen einen fauligen Geruch. Die Rattenplage im Mündungsgebiet war groß.

Zwischen dem 26. 7. 1961 und dem 28. 6. 1962 wurden neun Proben entnommen und zu jeweils 10 und 100 ml angereichert. *Am 23. 5. 1962 konnten in 100 ml Wasser S. typhi murium nachgewiesen werden, am 13. 8. 1964 S. enteritidis.*

2. Nellenbach

Als kleiner Bach mit großem Einzugsgebiet fließt der *Nellenbach* bereits vor *Überlingen* durch einige kleinere Ortschaften, doch ist sein Wasser vor der Stadt noch klar und geruchlos. Durch *Überlingen* fließt er z. T. in Rohren, aber auch offen, entlang der alten Stadtmauer. In der Stadt werden ihm viele Abwässer zugeleitet, u. a. auch das des städtischen Schlachthofes. Die Mündung in den See liegt bis Juli unter dem Wasserspiegel. Von der Mündungsstelle aus zeigt sich das ganze Jahr hindurch eine trübe Abwasserfahne weit hinaus in den See, meist in westlicher Richtung verlaufend.

Die Probeentnahme erfolgte an der Mündungsstelle in den See. Das entnommene Wasser war stets stark getrübt, enthielt viele gröbere organische Bestandteile und roch stark faulig.

Bei 17 Untersuchungen zwischen dem 27. 7. 1961 und dem 20. 8. 1964 fanden sich in 10—100 ml, mit Ausnahme der Probe vom 3. 5. 1962, stets Salmonellen. Isoliert wurden: S. typhi, S. paratyphi B, S. infantis, S. typhi murium, S. oranienburg, S. enteritidis und S. bareilly.

In 1 ml gelang der Nachweis von S. *paratyphi B* achtmal, von S. *infantis* und *S. bareilly* je einmal. In 0,1 ml konnten je einmal S. *paratyphi B*, S. *bareilly* und S. *enteritidis* festgestellt werden.

Am häufigsten erschienen S. *paratyphi B* (14mal), S. *bareilly* (8mal), S. *enteritidis* (3-mal), S. *oranienburg* (2mal), während S. *typhi*, S. *typhi murium* und S. *infantis* jeweils nur bei einer Entnahme erfaßt wurden.

3. Goldbach

Sein Einzugsgebiet weist einige Wohngebiete auf. Das 10 m vor der Mündung in den See entnommene Wasser war öfters bräunlich trübe verfärbt und roch abwasserartig.

Vom 24. 10. 1961 bis 28. 6. 1962 wurden 6 Proben entnommen. *Dabei konnte am 2. 4. 1961 und am 28. 6. 1962 jeweils in einer Anreicherung von 100 ml Wasser S. paratyphi B nachgewiesen werden.*

Daraus geht also hervor, daß in erster Linie der Nellenbach, dem Krankenhaus- und Schlachthofwässer (s. a. *Steininger, Schaal*) *zufließen, reichlich Salmonellen dem See zuführt; andere Bäche mit erheblich geringerer Wasserführung aber ebenfalls starker Belastung mit häuslichen Abwässern, wie der Sipplinger Bach und der Mühlbach bei Ludwigshafen, wiesen bei je sieben Untersuchungen keine Salmonellen auf.*

Bemerkenswert ist auch, daß in der *Stockacher-Aach* nur S. *typhi murium* und S. *enteritidis* nachgewiesen werden konnten, wobei die Rattenplage im Mündungsgebiet ursächlich zunächst in Frage kommt.

Demgegenüber sind die anderen, mit häuslichem Abwasser — vorwiegend mit Spül- und Reinigungswasser, kaum mit Fäkalien — stark vermischten Dorfbäche anscheinend nur sporadisch Salmonellenspender.

B. Die Salmonellen im Epi- und Hypolimnion

I. Die Bewegungen der Wassermassen

Über die Bewegungen der Wasserkörper ist vorauszuschicken:

Jeder tiefere und größere See der gemäßigten Zonen zeigt während der Sommermonate eine horizontale Schichtung; ihre Teile werden als *Epi-*, *Meta-* und *Hypolimnion* bezeichnet.

Das *Epilimnion* weist als wärmste Schicht des Sees das geringste spezifische Gewicht auf und lagert demzufolge auf dem übrigen Wasserkörper. Wind und Wellengang durchmischen es ständig und verdriften es mit Geschwindigkeiten, die größer sind als die der darunterliegenden Schichten. Die Mächtigkeit des Epilimnions nimmt im Laufe des Sommers durch fortlaufende Erwärmung und Durchmischung infolge von Wind und Strömungen zu.

In der Tiefe des Seebeckens liegt, meteorologischen Einwirkungen weitgehend entzogen, das *Hypolimnion*. Sein Wasser weist mit Temperaturen von +4 bis +6° C die größte Dichte auf. *Trinkwasserentnahmen müssen aus dieser Schicht erfolgen.* Zwischen Epi- und Hypolimnion ist das *Metalimnion* eingelagert. Dieses stellt die Zone des Temperaturüberganges dar und steht demzufolge mit den beiden Schichten des Epi- und Hypolimnions im Austausch. Der Temperaturübergang vollzieht sich rasch, d. h. die Schicht des Metalimnions ist normalerweise dünn. Sie wird demzufolge auch als „Sprungschicht" (Thermoklin) bezeichnet. Nur bei stärkerer, in der Regel windinduzierter Turbulenz des Sees erfolgt der Temperaturabfall langsamer, so daß das Metalimnion stärker ausgebildet wird. In diesem Fall tritt ein mehr allmählicher Rückgang der Temperaturen von der Oberfläche bis zur Seetiefe ein.

Eine Verlagerung von spezifisch leichten Wassermassen des Epilimnions direkt in das Hypolimnion ist zur Zeit stabiler Schichtung wegen der bestehenden Dichteunterschiede im allgemeinen nicht möglich. Die verschieden warmen, übereinanderliegenden Wasser-

schichten eines stehenden Gewässers verhalten sich jedoch nicht so ruhig, wie nach der unterschiedlichen Dichte zu erwarten wäre *(Lehn)*. Winde und Stürme können das Schichtungssystem in Schrägstellungen und nachfolgende komplizierte Schwingungen versetzen. In Ufernähe des *Überlinger Sees* wurden dabei vertikale Verschiebungen der Wasserkörper in 40 bzw. 60 m Tiefe um 25 bzw. 20 m festgestellt *(Lehn)*. Das bedeutet also, daß „tiefenfremdes" Wasser mit höherer Temperatur und größerem Planktongehalt in 60 m Tiefe erscheint.

Mit fortschreitender Abkühlung oberflächennaher Wasserschichten im Herbst verringern sich die Dichteunterschiede zwischen Epi- und Hypolimnion und es bedarf nur geringer Anstöße durch Wind und Strömung, um diese Schichten in die Tiefe zu verfrachten und tiefe Wasserkörper an die Oberfläche gelangen zu lassen. Ab Dezember ist am *Bodensee* mit einer weitgehenden Durchmischung des gesamten Wasserkörpers zu rechnen. Dieser Zustand der *Vollzirkulation* hält an, bis im folgenden Frühjahr durch Erwärmung des oberflächennahen Wassers wieder durch Dichteunterschiede separierte Schichten aufgebaut werden können. Die Ausbildung einer winterlichen Schichtung ist nur bei besonderen meteorologischen Verhältnissen, wie länger anhaltende Windstille und strenger Frost, möglich *(Auerbach, Ruttner)*.

Die weitverbreitete Ansicht über den Verbleib von eingeleiteten Abwässern in einem solchen „Vorfluter" ist die, daß zur Zeit der Vollzirkulation die Abwasserlast von einer größeren, stärker durchmischten Wassermenge aufgenommen und verdünnt wird, während zur Zeit des Bestehens einer stabilen thermischen Schichtung im Sommer ausschließlich die wärmsten Wasserschichten des Epi- und Metalimnions die ebenfalls erwärmten Abwässer aufnehmen *(Selenka u. Ruschke)*.

Da der Austausch größerer Wassermassen zwischen Epi- und Metalimnion einerseits und Hypolimnion andererseits ausgeschlossen werden kann, dürfte für einen vertikalen Transport von freien, nicht adsorbierten pathogenen Keimen aus den abwasserbelasteten wärmeren Schichten in das Hypolimnion lediglich eine in Monaten ablaufende Sedimentation in Frage kommen. Zu einer Trinkwasserentnahme ab 40 m Tiefe würden suspendierte Bakterien jedoch durchschnittlich 9 bis 10 Monate und zu einer Tiefe von 60 m etwa 14 Monate benötigen *(Kusnezow)*.

Wir wollten zunächst die Frage beantworten, ob überhaupt bei den hydrologischen Verhältnissen eines großen Sees der Salmonellennachweis in den einzelnen Schichten gelingt. Darüber fehlen Untersuchungen. Zudem kann am Bodensee der Ablauf der Eutrophierung eines vor wenigen Jahrzehnten noch reinen Sees bevorzugt an solchen Verunreinigungen verfolgt werden; handelt es sich doch nicht um Indikatorkeime als Anzeiger einer potentiellen Gefahr, sondern um tatsächliche Gefahren. Es ist hygienisch besonders wichtig, wenn spätere Untersucher auf Bezugswerte zurückgreifen können.

II. Die Untersuchung des Wassers aus dem Epi- und Hypolimnion

1. Wasser aus dem Epilimnion

Vor *Süßenmühle*, etwa 450 m vom Ufer entfernt, wurden in 0,5 m Tiefe jeweils 10 l Wasser entnommen, durch Membranfilter filtriert und diese in *Preuß*sche Anreicherungsbrühe eingebracht. Zwischen dem 18. 11. 1960 und dem 24. 5. 1962 wurden *in elf Proben niemals Salmonellen nachgewiesen.*

2. Wasser aus dem Hypolimnion

a) In gleicher Weise an dieser Stelle untersuchtes Wasser aus 60 m Tiefe ergab bei ebenfalls elf Proben mit je 10 l wiederum stets negative Befunde.

b) Zur Untersuchung größerer Wassermengen wurde eine Kühlzentrifuge MSE high speed 17 000 mit Durchlaufrotor eingesetzt. Bei 17 000 Umdrehungen/min und einem Durchlauf von 200 ml Wasser/min war eine nahezu vollständige (größer als 95%ige) Abscheidung frei suspendierter Keime und eine völlige aller an Partikel adsorbierten Keime zu erwarten.

Unter vier Proben ließ sich in einem Fall S. paratyphi B nachweisen. Das dabei angereicherte Zentrifugat stammte aus 100 Liter Wasser. Aus diesen Ergebnissen war der Schluß zu ziehen, daß eine Infektion des Hypolimnion durch frei im Wasser suspendierte Keime kaum in Frage kam; die Angaben von *Kusnezow* über die Sedimentationszeit freischwebender Keime bleiben also bei unseren Verhältnissen nur von theoretischem Interesse.

Tabelle 1: Salmonellen-Isolierungen aus dem Filterschlamm von Sandschnellfiltern (Juli 1961 bis Juni 1962)

Datum	Laufzeit des Filters i. Wochen ca.	Wasser-tempera-tur		Salmonellen in 1 ml[3])	10 ml	100 ml
30. 8. 61	1	4,8°		negativ	S. bareilly	negativ
25. 10. 61	5	4,9°	a)	negativ	negativ	negativ
			b)	negativ	negativ	S. paratyphi B
5. 1. 62	3	4,7°	a)	——[4])	S. paratyphi B	S. paratyphi B
			b)	——	S. paratyphi B	S. paratyphi B
3. 4. 62	4	4,7°	a)	——	S. paratyphi B S. bareilly	S. paratyphi B S. typhi murium
			b)	——	S. paratyphi B S. bareilly	S. paratyphi B S. bareilly S. typhi murium
			c)	——	S. paratyphi B S. bareilly S. typhi murium	S. paratyphi B S. bareilly S. typhi murium
			d)	——	S. bareilly	S. bareilly S. paratyphi B
3. 5. 62	3	4,9°	a)	negativ	negativ	S. bareilly S. typhi murium
			b)	S. paratyphi B	negativ	negativ
			c)	S. paratyphi B	negativ	negativ
			d)	negativ	S. paratyphi B	S. typhi murium
			e)	negativ	negativ	negativ
24. 5. 62	6	5,0°	a)	negativ	negativ	S. paratyphi B S. bareilly
			b)	S. bareilly	S. bareilly	negativ
			c)	S. paratyphi B	negativ	negativ
			d)	negativ	negativ	S. paratyphi B S. bareilly
			e)	negativ	negativ	S. bareilly
29. 6. 62	2	5,0°	a)	negativ	negativ	negativ
			b)	negativ	negativ	negativ
			c)	negativ	negativ	negativ
			d)	negativ	S. paratyphi B	negativ
			e)	negativ	negativ	negativ

[3]) 1 ml Schlamm entspricht durchschnittlich 14 mg Trockensubstanz
[4]) —— = nicht durchgeführt

3. Filterschlammuntersuchungen einiger mit Tiefenwasser beschickter Sandschnellfilter

Ein dem Zentrifugat der Durchlaufzentrifuge ähnlicher Rückstand liegt in den obersten Sandschichten von Schnellfiltern vor, die mit Wasser aus 60 m Tiefe gespeist werden. Der Filterschlamm setzt sich zum größten Teil aus organischem Material zusammen, vorwiegend aus Plankton, aus Resten höherer Pflanzen, aus Schwebstoffen der Abwasser- und Industrieeinleitungen, usw.

Soweit Bakterien nicht an größere Partikel adsorbiert sind und mit diesen zurückgehalten werden, können sie zum Teil noch in der Filterschicht selbst gebunden werden. Es ist daher zu erwarten, daß Salmonellen, wenn sie mit dem zu filtrierenden Wasser zugeführt werden, auch mit einem hohen Grad an Wahrscheinlichkeit im Filterschlamm wiedergefunden werden können.

Aus einem jeweils frisch abgelasssenen Filterbecken wurde an mehreren Stellen die oberflächliche Sandschicht steril abgehoben und in sterile Kolben gefüllt. Nach Trennen des Schlammes von mitgefaßtem Filtersand, was durch Ausschütteln mit Rohwasser erfolgte, wurden abgestufte Mengen in jeweils mehreren Parallelansätzen angereichert. Die mit 1 ml Schlammausschüttlung in die Anreicherung eingebrachten Schlammengen sind als Trockengewicht angegeben *(Tabelle 1)*.

Bei neun Entnahmen waren siebenmal Salmonellen nachzuweisen: sechsmal S. paratyphi B, viermal S. bareilly und zweimal S. typhi murium.

Diese Befunde wiesen auf das Plankton als S.-Träger hin, *die stets unter 5° C liegenden Temperaturen schlossen Vermehrung aus!*

C. Über die Verdriftung der Salmonellen, insbesondere während der Seegfrörne

Diese Untersuchungen sollen sich zunächst auf Beobachtungen am *Überlinger See* beschränken. Dabei waren die Verhältnisse über die Strömungen während der *Seegfrörne* von einmaliger Art.

I. Wie kommen die Salmonellen in das Hypolimnion

1. Der vertikale Weg

Nach den Ergebnissen von *Selenka* und *Kissling* über die Erkennung des Alters von Fäkalcoli war es sicher, daß auffallend viele Keime in 60 m Tiefe vorhanden waren, die jünger als fünf Tage sein mußten. Da diese Keime massenhaft von den Wasservögeln mit zäh zusammenhaltendem, sandigem Kot ausgeschieden werden, liegt es nahe, den kurzen, vertikalen Weg mit der Verunreinigung des Hypolimnion in Zusammenhang zu bringen. Versinkt doch nach unseren Modellversuchen dieser Kot bis zu Tiefen von 60 m zum Teil in 20 bis 30 Minuten — trotz der Erhöhung der Viskosität in kälteren Wasserschichten *(Selenka* und *Ruschke)*.

Von der deutschen Nord- und Ostseeküste ist bekannt, daß Seevögel als Reservoir und Überträger von pathogenen Keimen einschließlich S. *typhi*

angesehen werden müssen *(Steininger)*. Auch bei Vögeln des Binnenlandes, besonders solchen aus der Nähe von Kläranlagen, wurden Salmonellen im Kot nachgewiesen (*Petzelt* und *Steininger* 1961). Die Kotuntersuchung der in großer Zahl am Bodensee ansässigen Wasservögel (vorwiegend Möwen und Bläßhühner) ergab jedoch *in 28 Möwenkotproben und im Enddarminhalt von zwei Möwen und 13 Bläßhühnern, die zu diesem Zweck frisch geschossen worden waren, keine Salmonellen.* Trotzdem sollte diese Infektionsmöglichkeit nicht übersehen werden, besonders dort, wo offene Kläranlagen liegen bzw. geplant sind.

2. Der horizontale Weg

Die *geschlossene Eisdecke auf dem See* gestattete nun nach Wegfall der Verunreinigungen auf vertikalem Weg die Beantwortung der Frage, ob und welche Rolle rein horizontale Verdriftungen spielen. Wir haben, nachdem der See etwa zehn Tage zugefroren war, mit den Versuchen begonnen. Auch in diesen Zeiten sind Fäkalcolizahlen zwischen 50 und 100 in 1 Liter Wasser vorhanden. *Es waren fast ausschließlich Fäkalcoli, die höchstens vier bis fünf Tage im Wasser gewesen sein konnten.* Schon daraus kann also mit einer gewissen Sicherheit eine horizontale Verunreinigung entnommen werden.

Entsprechend erwiesen sich 20 S. *paratyphi B-Stämme,* die in der Zeit vom 14. 2. bis 17. 2. 1963 aus dem *Nellenbach* und den Filterschlämmen, also auch aus Tiefenwasser, isoliert werden konnten, in mehrfach wiederholten, sogenannten großen, 28 Tage beobachteten, bunten Reihen als identisch. Auch die Schleimwallbildung war vorhanden. Andere Salmonellenarten waren zu dieser Zeit nicht nachweisbar.

In der Tat ergaben die ergänzenden Versuche unter der Eisdecke mit Uranin maximale Wasserbewegungen von Ost nach West — also unter Ausschluß aller sonst stets störenden meteorologischen Einflüsse — von 1,2 km pro Tag.

Zusammenfassend kann man so bereits mit ausreichender Sicherheit folgern, daß z. B. *Abwasserfahnen des Nellenbachs mit ihren Fäkalindikatoren und Salmonellen schon unter diesen für eine Verfrachtung ungünstigen Verhältnissen — weil Winde fehlen — nach etwa vier bis fünf Tagen bereits in unserer Entnahmestelle bei Sipplingen im Hypolimnion angekommen sind.* Damit steht dann auch die Altersdiagnose der bei wochenlang zugefrorenem See gefundenen Fäkalcoli voll in Einklang. Die Beobachtungen von *Auerbach* und *Schmalz,* die nicht frei von meteorologischen Einflüssen sein konnten, sind nun durch die nachgewiesenen Strömungen gesichert. Die als Ursachen angenommenen Corioliskräfte drängen den *Rhein* an das Nordufer des Sees. Dabei zweigt sich eine Strömung von Ost nach West am *Überlinger See* ab. Sie verläuft am Nordufer und dann am Südufer in umgekehrter Richtung entlang des *Bodanrück* von West nach Ost. *Diese Strömungen sind also auch für die Verteilung der Salmonellen nicht zu vernachlässigen.* Sie verdienen hygienisch eine besondere Beachtung.

3. *Weitere Beweise für den Ost-West-Transportweg am Nordufer des Überlinger Sees*

Weitere Beweise für diesen Transportweg vermittelten Phag-Typisierungen sowie biochemische Untersuchungen der am *Nellenbach*einlauf, in den Filterschlämmen und auf Teilstrecken gefundenen Salmonellen. Brauchbar für diese Verfahren waren lediglich S. *paratyphi B* und S. *typhi murium*. Die übrigen S.-Typen schieden aus, da sie entweder nur an einem Fundort vorkamen (S. *typhi*, S. *infantis* am Einlauf des *Nellenbachs*) oder überhaupt nicht in biochemisch oder Phag-analytisch unterscheidbare Stämme aufgegliedert werden können (S. *bareilly*).

Die Stämme wurden geprüft auf: Schleimwallbildung, Vergärung von Dextrose, Lactose, Saccharose, Salizin, Mannit, Sorbit, Maltose, Adonit, Dulcit, Inosit, Arabinose, Glycerin, Xylose, Rhamnose, Trehalose, d-, l- und i-Tartrat, Na-Citrat, Mukat, auf Bildung von Indol, H_2S und Acetylmethylcarbinol, auf Säurebildung im Methylrotmedium, auf Harnstoffspaltung und auf Wachstum in *Koser*-Citrat.

Alle Stämme von S. *paratyphi B* zeigten kulturmorphologisch und biochemisch das für sie typische Verhalten ohne die geringsten Abweichungen voneinander, obwohl unterschiedliche Stoffwechselleistungen bekannt sind *(Kauffmann)*. Auch die mit S. *paratyphi B* serologisch übereinstimmende S. *java* wurde nicht gefunden *(Kauffmann; Lenk, Rasch* u. *Bulling; Brandis* u. *Thomsen)*.

Bei den S. *typhi murium*-Stämmen fanden sich bei kulturmorphologischer Übereinstimmung jedoch drei verschiedene Vergärungstypen. Die Abweichungen der Stämme voneinander lagen in der Inosit-, Sorbit-, Rhamnose- und d-Tartrat-Verwertung.

Alle typisierten Stämme (S. *paratyphi B*)[2]) vom *Nellenbach* (Mai, Juni/Juli und Oktober 1962), aus der Teilstrecke *Westbad-Nellenbach* (Juni/Juli 1962), aus 7 m Tiefe vor *Süßenmühle* (4. 10. 1962), vom Zentrifugensediment aus 60 m Tiefe (5. 10. 1962) und aus dem Filterschlamm des Sandfilters (Mai und Juni/Juli 1962) *zeigten den gleichen Lysotyp 3 a I var. 1. Damit ist für diesen Typ der Weg vom Nellenbach zum Filterbecken ausreichend wahrscheinlich gemacht.*

Abweichend verhielt sich nur ein aus dem *Goldbach* (Juni 1962) isolierter S. *paratyphi B*-Stamm *(Lysotyp Taunton)* und ein weiterer Stamm (Oktober 1962) aus 60 m Tiefe *(Lysotyp 1)*.

Auch die Lysotypie bei S. *typhi murium* zeigte an, daß es sich um jeweils verschiedene Typen handelte. Die Stämme des *Nellenbaches* im April 1962 besaßen den Lysotyp 1a, die des Filterschlammes den Typ 2 und einen unbestimmbaren Typ. Bei der nächstfolgenden Untersuchung des Filterschlammes (Anfang Mai 1962) trat ein dritter Lysotyp (2 c) in Erscheinung und der Ende Mai aus der *Stockacher Aach* isolierte S. *typhi murium*-Stamm ergab nochmals einen anderen Typ (2 var. 1). Die mit Hilfe biochemischer Differenzierung und Lysotypie bei beiden Spezies erhobenen Befunde bestätigten Angaben von *Rische* und *Kretzschmar* (1962), denenzufolge zur Feststellung

[2]) Herrn Prof. Dr. *Brandis*, Göttingen, danken wir ganz besonders für die Typisierungen.

bzw. zum Ausschluß epidemiologischer Zusammenhänge häufig schon eine ausgedehnte biochemische Untersuchung genügt.

Zusammenfassend ist somit die Aussage möglich, *daß die Salmonellen durch eine stets vorhandene Strömung von Ost nach West — unter Ausschluß meteorologischer Faktoren — mit Geschwindigkeiten bis 1,2 km am Tag verfrachtet werden können.* Ostwinde beschleunigen diesen Transport, Westwinde verzögern ihn. Nach den bakteriologischen Befunden betrug die *nachweisbare* Transportstrecke etwa 4,5 km *(Nellenbach bis Sipplingen).* Genauso wie die Farbstoffmoleküle können frei suspendierte Keime im Wasser *horizontal* transportiert werden. Diese Vorstellung macht keine Schwierigkeiten. Dabei sinken aber, *auch in Zeiten der Stagnation des Sees,* die Salmonellen in das Hypolimnion ab, ein Vorgang — gegensätzlich dem der Farbstoffmoleküle —, der eine eingehende Untersuchung nötig machte. Wir haben bereits auf die theoretischen Berechnungen von *Kusnezow* verwiesen; selbst unter Berücksichtigung von vorübergehenden Schrägstellungen im Wasserkörper, worüber *Lehn* umfassend berichtet hat, würde man in 60 m Seetiefe frühestens nach sechs Monaten mit dem Eintreffen der Salmonellen rechnen können. Ähnlich ist es natürlich mit Fäkalindikatoren, für die feststeht, daß Zeiten unter fünf Tagen voll genügen.

Folglich war zu untersuchen, wie nach den Ergebnissen der Tiefenwasseruntersuchung bei der horizontalen Verdriftung der Weg ins Hypolimnion in so kurzer Zeit zurückgelegt wird.

II. Das Plankton als Träger von Salmonellen

Nach vorliegenden Berichten (direkte Methode der Keimzählung, *Deufel* 1957) fanden sich bei Bodenseeuntersuchungen im Epilimnion und in Vertikalprofilen des Hypolimnion Keimzahlen, die teilweise um mehrere Zehnerpotenzen über den von uns kulturell festgestellten Werten lagen *(Selenka* und *Ruschke).* Fortlaufende und eingehende mikroskopische Untersuchungen von Wasserproben aller Art haben uns am Bodensee über das Mißverhältnis zwischen der Nachweismöglichkeit einzelner Bakterien und von

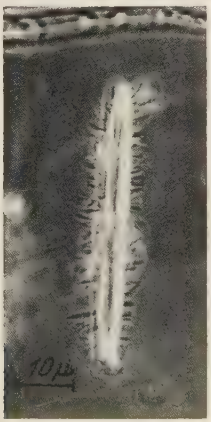

Abbildung 1. Nitzschia mit Keimen beladen; sie war noch gut beweglich

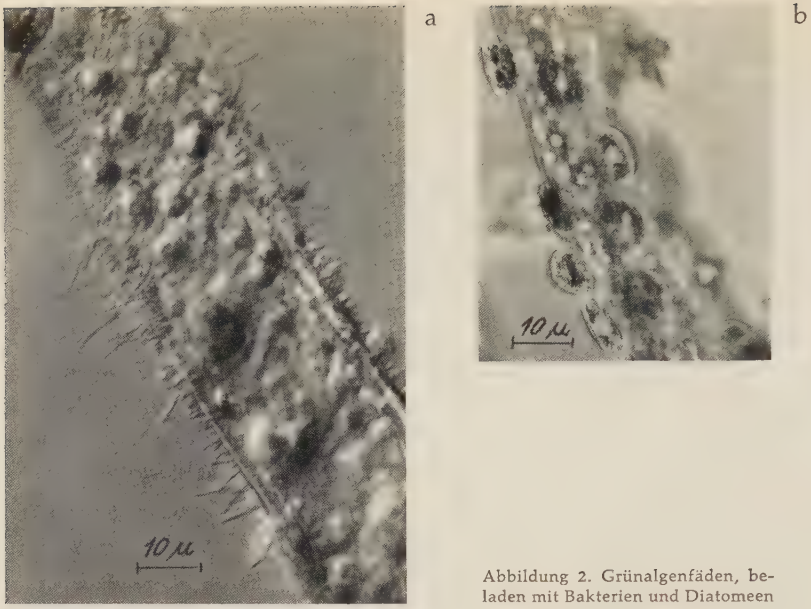

Abbildung 2. Grünalgenfäden, beladen mit Bakterien und Diatomeen

Bakterienagglomeraten belehrt. Vor allem fiel auf, daß das lebende und tote Phytoplankton und auch das tote Zooplankton mit Bakterien geradezu beladen sein können, während in ihrer Umgebung demgegenüber nur spärlich *freie* Bakterien nachweisbar sind.

Zusammengefaßt lautete das Ergebnis:

Das *Phytoplankton* übernimmt bevorzugt den Keimtransport. Dabei sind manche Diatomeen (*Nitzschia-, Navicula-, Cyclotella-, Synedra-, Tabellaria-, Fragilaria-, Asterionella*-Arten) besonders wichtige Keimtransporteure (Abbildung 1).

Die gleiche Beobachtung machten wir bei Chlorophyceen, besonders bei *Cladophora*-Arten, ferner fanden wir als Keimträger *Geminella-, Spirogyra-* und *Ulothrix*-Arten, die zum Teil abgetrieben von den Orten ihres Aufwuchses, beachtliche Keimtransporteure sind. Bei diesen Studien fiel auch auf, daß die im *Überlinger See* durch hohe Populationszahlen/ml gekennzeichneten Arten *(Rhodomonas, Cryptomonas* und *Stephanodiscus)* nahezu frei von anhaftenden Bakterien sind.

Das *Zooplankton* ist für den Keimtransport und dementsprechend für die Verbreitung pathogener Keime im Bodensee von untergeordneter Bedeutung. Weder auf der Außenfläche von *lebenden* Crustaceen noch im Körperinneren sind im allgemeinen Bakterienhaufen anzutreffen. Selbst der Darm und die Scybala zeigen Keimarmut.

Das Anhaften der Keime und der Keimagglomerate an den Gallerthüllen von Kieselalgen, Blaualgen und Grünalgen ist mechanisch bedingt (Grünalgen können ferner geradezu mit keimbesetzten Diatomeen gepanzert sein [Abbildung 2]). Unterschiede in der Anordnung der Schleim- oder Gallertporen, der funktionelle Zustand und wohl auch

Unterschiede in der Klebrigkeit solcher Stoffe führen zu einer großen Variabilität des Bakterienballastes der Zellen bzw. ihrer Kolonien.

Außen anhaftende, einzelne Bakterien sind bei lebenden und toten Kleinkrebsen vor allem zwischen den Membranauszackungen und den Borsten zu beobachten. Bei alternden und absterbenden Tieren bietet die äußere Chitinhülle vielfache Aufwuchs*flächen*. Bevorzugt sind Übergangsstellen der Chitinsegmente und Glieder, ferner Verletzungsstellen. Von hier aus erfolgt das Eindringen der Keime über Lamellenstrukturen und Gefäßbahnen in den nährstoffreichen Schalenraum, in die Segmente und Glieder der Extremitäten. Abgestorbene Kleinkrebse können auch rasch vom Darmkanal aus im Inneren befallen werden. Stundenlang können die beweglichen Keime in diesem „Gefängnis" beobachtet werden. Trotz aller Versuche finden sie selten den Weg nach außen. Die rapide Umsetzung der organischen Bestandteile erfolgt anscheinend durch ganz wenige Arten.

Insgesamt wiesen diese Erfahrungen den Weg zur besonderen Untersuchung des Zoo- und Phytoplanktons auf Salmonellen *(Knorr* und *Sonnabend; Sonnabend)*.

1. Das Zooplankton

Methodik

Lebende Ruderfußkrebschen wurden mit Planktonnetzen gefangen, dann mit dest. Wasser zweimal gewaschen. Jeweils ein Tier kam in 3 ml *Preußsche* Anreicherung. Die Bebrütung erfolgte 48 Stunden bei 22° und 37° C. Die Tiere waren dann so mazeriert, daß die im Inneren vorhandenen Keime sich ebenso wie in den entleerten Scybala vermehrt haben mußten.

Es wurden untersucht: 100 Tiere aus 60 m Tiefe; 100 Tiere aus einem Filterbecken, das mit Wasser aus 60 m Tiefe gespeist war; 1000 Tiere aus 7 m Tiefe, ungefähr 200 m bis 800 m vom Ufer entfernt; ferner zirka 10 000 (gemixte) Tiere aus einem Filterbecken mit Tiefenwasser (vorwiegend *Mesocyclops bodanicola* und *Andiaptomus gracilis*).

Salmonellen waren nicht nachweisbar, auch dann nicht, als wir die Untersuchungen zum Teil bis auf 100stündige Bebrütung ausdehnten.

Das Zooplankton schwebt nicht nur im Wasser, sondern besitzt meist eine gute Eigenbeweglichkeit. In vertikaler Richtung kann es binnen weniger Stunden um mehrere zehn Meter tauchen oder aufsteigen, wobei es die Sprungschicht durchbrechen kann. So ist ein vertikaler Keimtransport an sich möglich.

Elster beschreibt, wie *Heterocope borealis* als Naupliuslarve im April bis Mai an der Oberfläche heranwächst. Je mehr sich die Tiere der Geschlechtsreife nähern, desto lichtscheuer werden sie und gehen bis auf 100 m Tiefe. 90 % von ihnen sind nach Sonnenuntergang schon wieder in den oberen Schichten des Epilimnion. *Daphnia longispina* ist nur von Ende Mai bis Anfang Juni in den oberen zehn Metern des Epilimnion, im Juni kommt sie nur nachts an die Oberfläche. Im Herbst finden sich *Heterocope* und *Daphnia* wieder allgemein an der Wasseroberfläche.

2. Das Gesamtplankton

Methodik

An den Hahn einer Heberleitung aus 60 m Tiefe wurden Planktonnetze in der jeweils angegebenen Maschenweite gehängt. Im freien Wasser wurden Planktonnetze mit der angegebenen Maschenweite in den entsprechenden Tiefen durch das Wasser gezogen. Das gewonnene Plankton wurde mit 100 ml Wasser aufgeschwemmt, dann mit dem Turrax bis zur Pipettierfähigkeit gemixt und wie üblich in *Preußsche* Anreicherung verteilt.

a) Wasser aus 60 m Tiefe

Vom 6. 4. 1962 bis 31. 10. 1962 wurden sieben Proben bei Maschenweiten von 25 bis 50 μ[5]) entnommen. Die durchgeflossenen Wassermengen betrugen 5,0 — 7,2 — 5,0 — 8,6 — 7,5 — 5,0 und 4,4 m^3.

Am 2. 10. 1962 wurde bei Maschenweite 50 μ nach Durchfluß von 5,0 m^3 *S. paratyphi B* gefunden. Das Plankton bestand aus Algen, Wasserflöhen und Ruderfußkrebschen.

b) Wasser aus dem Epilimnion in rund 7 m Tiefe

1. Am 26. 5. und 29. 6. 1962 wurde die Strecke *Überlingen* (Höhe Promenade) bis Westbad, dann Westbad bis Campingplatz und von dort bis *Süßenmühle* je mit einem Planktonnetz von 25 bzw. 50 μ rund 300 m vom Ufer entfernt abgefischt. Die Wassertemperaturen lagen bei 10,6° bis 11,3° C. *Am 26. 5. war alles negativ, am 29. 6. 1962 wurde auf der ersten Teilstrecke S. paratyphi B und S. bareilly nachgewiesen.* Wir sehen also, daß die Überlinger Abwässer bis in das Pelagial hinaus das Plankton infizieren.

2. Vom 1. bis 12. 10. 1962 herrschte eine sehr starke Blaualgenblüte; das Wasser war fast ausschließlich durch Phytoplankton — Ruderfußkrebschen waren nur vereinzelt nachweisbar — getrübt. Vor *Sipplingen*, etwa 400 m vom Ufer entfernt, wurden bei 45 μ Maschenlänge 10 Proben nach jeweils 20 Minuten Durchziehen des Netzes entnommen. 10 ml Plankton entsprach der Trockensubstanz von rund 87 mg im Durchschnitt. Die Temperatur betrug in 7 m Tiefe etwa 15,5° C.

Vier Proben waren negativ, sechs Proben waren positiv, und zwar enthielten vier nur S. bareilly, eine nur S. paratyphi B, eine S. paratyphi B und S. bareilly.

Vor *Überlingen* (Höhe Promenade) rund 300 bis 800 m vom Ufer entfernt wurde zur gleichen Zeit ein Netz mit 132 μ Maschenweite in ebenfalls 7 m Tiefe bei 15,8° C durchgezogen. Die Ausbeute bestand ebenfalls fast nur aus Phytoplankton. *Eine Probe war negativ, die andere enthielt S. bareilly.*

Das Ergebnis spricht somit für die Verdriftung von Phytoplankton mit Salmonellen von Überlingen bis nach Sipplingen (rund 4,5 km), *noch dazu in gleichen Wasserschichten.* Dies ist keinesfalls die Regel. Solche Befunde sind nur bei fast gleicher oder höherer Abwasser- wie Seetemperatur zusammen mit günstigen Winden möglich. Auf die Übereinstimmung mit zahlreichen limnologischen Befunden über die schnelle Verfrachtung von Plankton sei verwiesen.

3. Erwähnenswert ist noch eine Wiederholung des Versuches am 31. 10. und 1. 11. 1962 *bei sehr geringem Planktongehalt* (Temperatur 11,5° C). Dabei gingen wir so vor, daß die *durch* das 25 μ-Netz gelaufenen Wassermengen (je 5×10 l Proben) membranfiltriert wurden (Aussaat der Membranfilter zur Anreicherung).

Es fand sich nur in einer Probe bei *Sipplingen* S. *bareilly, alle 5×10 l Proben vor Überlingen waren negativ, ebenso die Rückstände. Wir sehen, daß die Salmonellen vom Plankton abgespült werden können.*

---

[5]) μ = Kantenlänge der Maschen

4. Auf der Teilstrecke *Goldbach—Nellenbach* wurde bei 20,5° C am 14. 8. 1963 bzw. 1964 das Planktonnetz mit 50 µ Maschenlänge etwa 300 m vom Ufer entfernt durchgezogen. In 40 bzw. 140 mg Trockensubstanz wurden S. *enteritidis* nachgewiesen.

5. Ferner fielen bei unseren Studien über die Art und Weise des Haftens von Keimen am *Plankton* 1963 noch folgende Salmonellenbefunde an:

19. 8.	Schussenmündung (Strandbad links)	467[6])	S. muenster
			S. typhi murium
		31	S. muenster[7])
14. 8.	Eriskirch (Höhe Strandbad)	49	S. enteritidis[7])
			S. typhi murium
19. 8.	Eriskirch (Höhe Strandbad)	477	S. paratyphi B
			S. braenderup
		48	S. braenderup
13. 8.	Überlingen-Ost	34	S. paratyphi B[7])
14. 8.	Überlingen-Ost	17	S. paratyphi B[7])
14. 8.	Überlingen-West	40	S. paratyphi B[7])

Zusammenfassend erwies sich also das Gesamtplankton vor allem als mit Salmonellen behaftet. Da bei Zooplankton weder in lebenden Einzelexemplaren noch in abgestorbenen Massen Salmonellen nachweisbar waren, kam zunächst nur das Phytoplankton für den Salmonellentransport in Frage. Dabei fehlen bei unserer Methode sicher erhebliche Bestände des Nanoplanktons, die Maschenlängen über 25 µ bzw. 50 µ gut passieren.

Die *Adsorption der Salmonellen an Phytoplankton* muß in erster Linie im Litoral geschehen, vor allem dort, wo produktionsstimulierende Abwasserzuflüsse die Vermehrung des Planktons und seinen Befall mit Keimen, also auch Salmonellen, gewährleisten. Die horizontale Verdriftung führt bei Verminderung der Nährstoffe ohne neue nennenswerte Zufuhr zu einem Absterben der geradezu unter optimalen Bedingungen (Luft, Temperatur) eruptiv entstandenen Massen; das Absinken beginnt, falls nicht Vertikalströmungen zusätzlich lebendes Plankton in die Tiefe drücken. Über das Absinken bemerkt *Denffer*, daß Sinkgeschwindigkeiten z. B. der häufig mit Bakterien beladenen *Nitzschia palea* im Normalfall 15 bis 30 mm/min betragen; ist sie jedoch besonders stark verfettet, so kann die Geschwindigkeit auf 0,1 mm/min heruntergehen.

So kommt es also zur Verbreitung im Hypolimnion. Dabei schieden auf weiten Entfernungen S. *typhi* und S. *infantis* aus, es hielten sich aber S. *paratyphi B*, S. *typhi murium* und S. *bareilly*, letztere vom *Nellenbach*-einlauf bis westlich von *Sipplingen*.

Auch ein anderer Salmonellenspender am Obersee, die *Schussen*, brachte mindestens fünf Salmonella-Arten in den See, aber trotz einer Strömung nach Westen verloren sich über das *Eriskirchner Strandbad* hinaus nach rund 2 km die Keime — allerdings bei rauher See — im Epilimnion. Wir hat-

[6]) mg Trockensubstanz
[7]) Die Untersuchung geringerer Mengen verlief negativ

ten noch keine Möglichkeit zur einwandfreien Untersuchung des Hypolimnions in dieser Gegend.

Zusammenfassung

1. Salmonellenprobleme wurden bisher in einem Süßwassersee von der Größe des Bodensees nicht untersucht. Frei im Wasser schwebende Salmonellen wären dort nach Ergebnissen mit der Durchlaufzentrifuge erst in etwa 50 bis 100 Liter zu erwarten.

2. Am Phytoplankton finden sich zahlreiche Bakterien, darunter auch Salmonellen. Sie sind bevorzugt an den Gallerthüllen adsorbiert.

3. Die vertikale und horizontale Verdriftung der Salmonellen wurde — während der „Seegfrörne" unabhängig von meteorologischen Einflüssen — bis rund 4,5 km weit im Epi- und Hypolimnion verfolgt. Wasserströmungen ließen sich so feststellen. Dies ist für die seuchenhygienische Beurteilung von Trinkwasserentnahmestellen und von Strandbädern wichtig. Zwingende Beweise für die Notwendigkeit von Schutzzonen an den Ufern sind so zu erbringen.

Schrifttum

Auerbach, M.: Beitr. naturk. Forsch. Südwestdeutschlands 11 (1952), 72.

Auerbach, M. u. *I. Schmalz:* Arch. Hydrobiol. 23 (1931).

Denffer, D. v.: Arch. Mikrobiol. 14 (1949).

Deufel, J.: Naturwissenschaften 46 (1959), 654.

Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae, 2. Aufl., Kopenhagen 1954.

Kauffmann, F.: Z. Hyg. 141 (1955), 546.

Kauffmann, F.: Die Bakteriologie der Salmonella Species, Kopenhagen 1961.

Knorr, M. u. *W. Sonnabend:* im Druck.

Kusnezow, S. J.: Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. 1. Aufl., Berlin 1959.

Lehn, H.: GWF 97 (1956), 222.

Lehn, H.: Beitr. naturk. Forsch. Südwestdeutschlands 19 (1960), 17.

Lehn, H.: GWF 103 (1962), 779.

Petzelt, K. u. *F. Steininger:* Arch. Hyg. 145 (1961), 605.

Rische, H. u. *W. Kretzschmar:* Arch. Hyg. 146 (1962), 530.

Ruttner, F.: Grundriß der Limnologie. 3. Aufl., Berlin 1962.

Schaal, E.: Tierärztl. Rundsch. (1958), 355.

Selenka, F. u. *E. Kissling:* Arch. Hyg. 148 (1964), 516.

Selenka, F. u. *R. Ruschke:* Arch. Hyg. 149 (1965), 273.

Sonnabend, W.: Arch. Hyg. 147 (1963), 609.

Steininger, F.: Zbl. Bakt. Orig. 156 (1951), 358.

Steininger, F.: Der prakt. Desinfektor 45 (1953), 287.

Steininger, F.: Zbl. Bakt. Orig. 160 (1953), 80.

Steininger, F.: Dtsch. med. Wschr. 79 (1954), 1118.